4

ROLUL EXAMENULUI HISTOPATOLOGIC ÎN DIAGNOSTICUL NEUROPATIILOR

Marilena Alexianu, Andrei Dan, Emilia Manole, Alexandra Vrabie
Clinica de Neurologie Colentina, UMF „Carol Davila“

Abstract

The peripheral nerve biopsy is a useful method for the diagnosis and study of peripheral neuropathies showing the possible morphological modifications in the nerve.

Nerve biopsy, practically always sural nerve biopsy, offers the precise diagnosis in the neuropathies with specific lesions (amyloid neuropathy, inflammatory or some genetic neuropathies etc).

In neuropathies without specific lesions the peripheral nerve biopsy offers precious diagnostic indications which are especially useful in coroboration with anamnestic, clinical, electriphysiological and other paraclinical data.

Peripheral nerve biopsy is also useful in the disease evolutivity and prognostic evaluation.

In some general diseases, especially in neurolipidoses involving peripheral nerve, the nerve biopsy is performed for observing the specific lesions of the disease.

Biopsia de nerv periferic este o metodă de diagnostic şi studiu în neuropatiile periferice evidenţiind prezenţa modificărilor morfologice din nerv într-o disfuncţie a acestuia.

Se prelevează pentru biopsie un fragment din nervul sural, singurul permis pentru biopsie deoarece este format practic numai din fibre senzitive şi inervează o zonă cutanată (aria externă a labei piciorului şi călcâiului) de importanţă mai mică pentru organism şi cu localizare distală, deci în general mai precoce şi mai sever afectată în neuropatii. În plus, suralul este uşor abordabil.

Biopsia de nerv sural arată tipul leziunii nervoase care este acelaşi şi pentru fibrele motorii şi vegetative, deşi acestea lipsesc din sural. Sigur, severitatea leziunilor fibrelor senzitive din sural poate fi diferită de severitatea lezării fibrelor din nervii motori sau autonomi, tipul leziunilor este însă acelaşi. Putem exemplifica prin cazul unui bolnav care prezenta aproape numai simptome vegetative. Biopsia de nerv a evidenţiat la acest bolnav leziuni de tipul celor din neuropatia inflamator-alergică, dar de intensitate redusă.

Biopsia de nerv poate arăta modificări morfologice discrete la un bolnav cu simptomatologie motorie severă. În astfel de cazuri importanţa modificărilor morfologice din muşchi indică indirect gradul de severitate al neuropatiilor.

Biopsia de nerv dă diagnosticul de certitudine în neuropatiile cu leziuni specifice ca neuropatia amiloidă (fig. 1a şi b), neuropatiile inflamatorii (fig. 2) (fig. 3), şi în unele neuropatii genetice ca, de exemplu boala Dejerine-Sottas, poate da diagnosticul şi în unele neurolipidoze în cazul în care nervul periferic este şi el afectat (fig. 4 şi 5).

Există şi excepţii ca de exemplu: biopsia unui bolnav a pus în evidenţă depozite de amiloid şi restul leziunilor secundare acestora. După aproape 20 ani, fiica acestui bolnav a fost biopsiată cu diagnosticul de neuropatie cu fenomene predominant vegetative, suspiciune de amiloidoză. Examenul bioptic al nervului sural a evidenţiat o

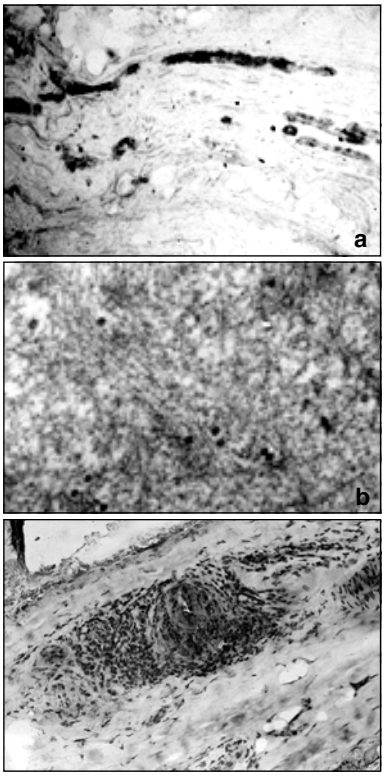


Figura 1
a. Depuneri de amiloid în endonerv (roşu de Congo, ob.40)
b. Fibrile de amiloid în endonerv (ME)

Figura 2
Infiltrat inflamator perivascular în nerv (HE, og. 40)

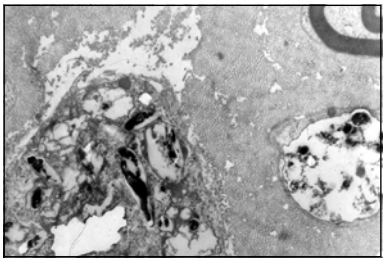


Figura 3
Globi leproşi (ME)

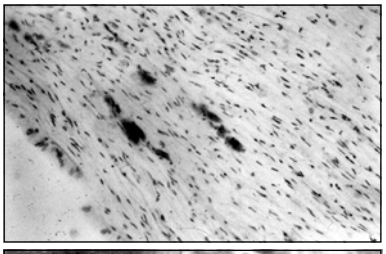


Figura 4
Numeroşi bulbi de ceapă într-o neuropatie de tip Dejerine-Sottas (albastru de toluidină, ob.100)

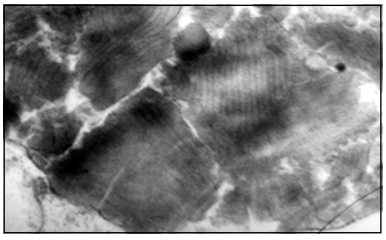


Figura 5
Material metacromatic în endonerv (Nissl, ob. 40)

neuropatie deosebit de severă în care pe prim plan erau leziunile de degenerare axonală cu scăderea densităţii fibrelor mielinice la 851 fibre/mm2 şi cu aspect de neuropatie interstiţială, dar fără prezenţa de amiloid, cel puţin în fragmentul obţinut prin biopsie.

În neuropatiile fără leziuni specifice, care sunt şi cele mai numeroase, biopsia de nerv sural arată diferite leziuni primare în nerv, de diferite intensităţi, a căror combinaţie determină tablouri morfologice de tipul neuropatiilor axonale sau demielinizante sau mixte. Sunt indicaţii de diagnostic care devin foarte utile prin coroborarea lor cu datele clinice, electrofiziologice şi alte date paraclinice în funcţie de caz.

Tablourile morfologice mai importante în neuropatii sunt: neuropatiile axonale walleriene sau newalleriene, neuropatiile demielinizante primare sau alergice şi neuropatiile mixte. Denumirea lor este dată de leziunea primară din nerv. Astfel:

1. Degenerarea walleriană este prezentă, în afară de traumatismele de nerv, în special în neuropatiile inflamator-alergice acute sau subacute foarte severe. Putem exemplifica prin cazul unui bolnav în vârstă de 35 ani, cu o neuropatie senzitivo-motorie cu importantă componentă vegetativă, care în antecedentele apropiate avusese o viroză respiratorie. Examenul fibrelor mielinice disociate a indicat: 30% fibre în degenerare axonală cu ovoizi şi bule pe toată lungimea fibrei (fig. 6a şi b), numai 9% fibre în demielinizare segmentală şi 1% fibre în remielinizare segmentală, deci demielinizare segmentală secundară, 28% fibre regenerate şi numai 32% fibre normale. Densitatea fibrelor mielinice era scăzută la 2718 fibre/mm2 (N = 7.000-11.000); histograma rămăsese bimodală ca în neuropatiile interstiţiale de tipul celor din neuropatiile inflamator-alergice. Pe secţiunile semifine (fig. 6c), ca şi în imaginile de microscopie electronică, s-au surprins fibre mielinice în dezintegrare (fig. 6d) şi macrofage care invadaseră celule Schwann precum şi resturi mielinice (fig. 6e).
2. Degenerarea axonală newalleriană apare cu mult mai frecvent în neuropatiile periferice fie ca proces primar, fie ca proces secundar demielinizării segmentale. Degenerarea axonală poate începe distal la nivelul terminaţiilor nervoase şi progresa centripet – este tipul „dying back" aşa cum se întâmplă în intoxicaţia cu 2,5 hexanediona (Cangiano şi col., 1980) sau în neuropatiile genetice. Degenerarea axonală poate începe tot distal dar nu terminal, ci undeva pe traiectul axonului, eventual multicentric, progresând atât centripet cât şi centrifug – este tipul de neuropatie distală produsă între altele de organofosforice, acrylamida, inflamaţii etc. În sfârşit primul afectat poate fi pericarionul, ca de exemplu în administrarea excesivă de piridoxină (Krinke şi col., 1981) sau în intoxicaţia cu aluminiu (Wisniewski şi col., 1982). Desigur sunt situaţii, în special în intoxicaţii, când nervul poate fi afectat la mai multe niveluri. Se înţelege că nivelul la care se prelevează biopsia are şi el o anumită importanţă. Datele amintite au fost obţinute prin studii experimentale.

Evoluţia leziunilor în degenerarea şi regenerarea axonală se poate urmări în fig. 8 (după Weller şi Cervos-Navarro, 1977).

În neuropatiile umane, Dyck (1993) face distincţia între neuropatiile axonale în care primul lezat este axonul şi neuropatiile neuronale în care primul lezat este pericarionul. Totuşi, tot Dyck emite ipoteza că întotdeauna în neuropatiile axonale primul suferind ar fi pericarionul care nu-şi mai poate întreţine periferia axonului ceea ce determină apariţia fenomenului de „dying back".

Se ştie că există o interacţiune strânsă între axon şi celulele Schwann care îl învelesc, astfel că o suferinţă primitivă a celulei Schwann poate induce degenerarea axonală.

În biopsia de nerv, degenerarea axonală se recunoaşte după scăderea în grade variabile a densităţii fibrelor mielinice (fig. 7a şi b), aspectul unimodal şi scurtat al histogramei fibrelor mielinice (fig. 9) prin afectarea preferenţială a populaţiei de fibre mielinice de talie mare care sunt şi cele mai lungi, deci mai greu de întreţinut de către neuron. Se pot găsi şi un număr variabil, în general mic, de fibre cu ovoizi şi bule pe preparatele de fibre mielinice disociate. În microscopia electronică se pot observa cordoane Bungner (fig. 10) – porţiuni de celule Schwann lipsite de axoni, mai rar fibre mielinice în dezintegrare sau resturi mielinice. Procesul evoluând în general mai lent, macrofagele lipsesc de obicei. În general în neuropatiile axonale, semnele de degenerare axonală se însoţesc de semne de regenerare axonală: pe secţiunile semifine apare o proporţie mare de axoni mielinici mici (fig. 11) şi mici grupuri de axoni mielinici de asemenea mici, cuprinşi iniţial în aceeaşi celulă Schwann (fig. 12). În microscopie electronică se văd muguri axonali

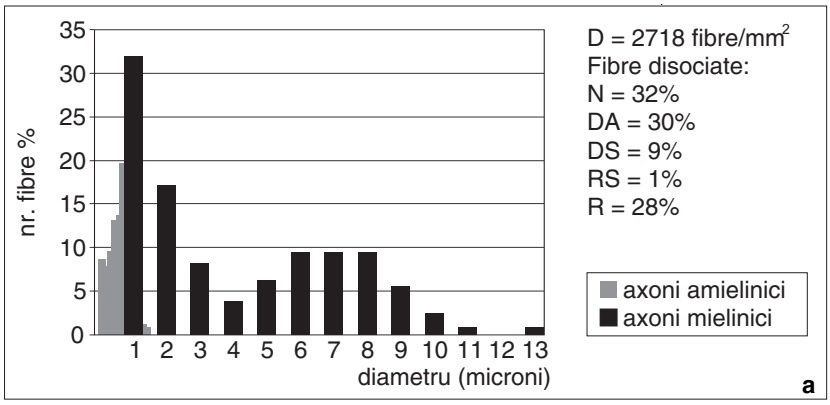
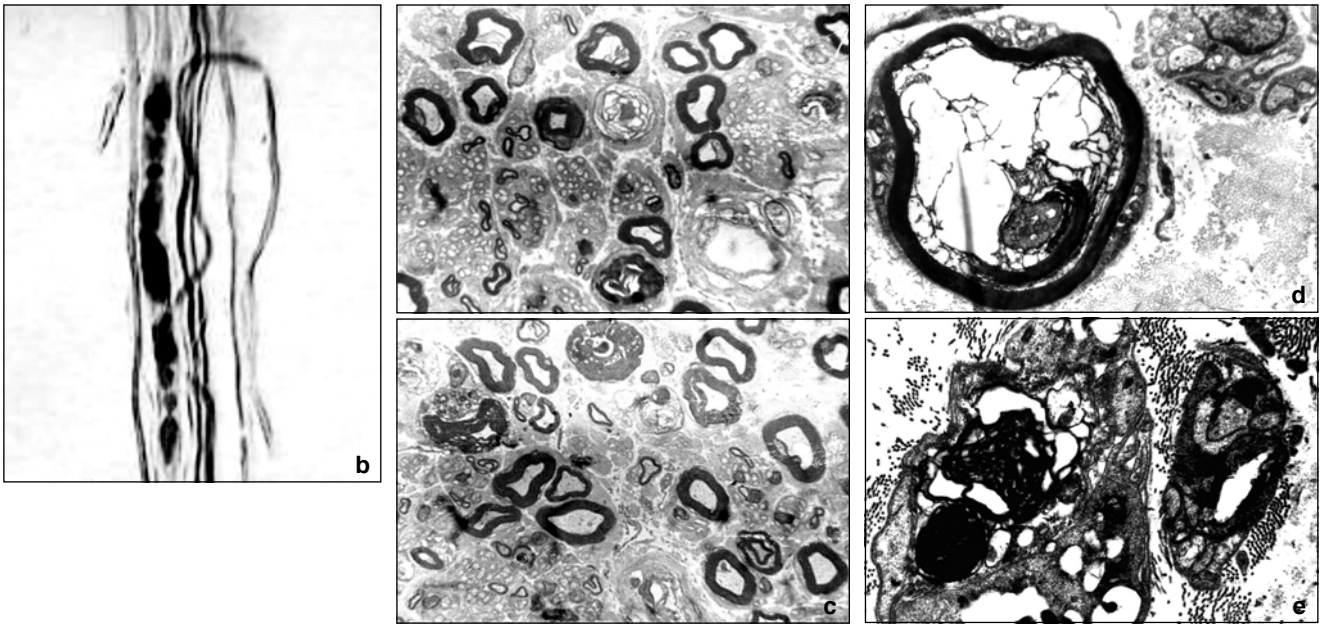


Figura 6
Neuropatie severă cu elemente de degenerare wallerianã:
a. Histograma fibrelor mielinice şi amielinice, proporţia fibrelor mielinice cu diferite tipuri de leziuni
b. Ovoizi şi bule mielinice pe o fibră mielinică disociată
c. Secţiuni semifine într-un fascicul nervos: teci mielinice în dezintegrare (albastru de toluidină, ob.100)
d. Teacă mielinică în dezintegrare (ME)
e. Macrofag pătruns într-o celulă Schwann (ME)



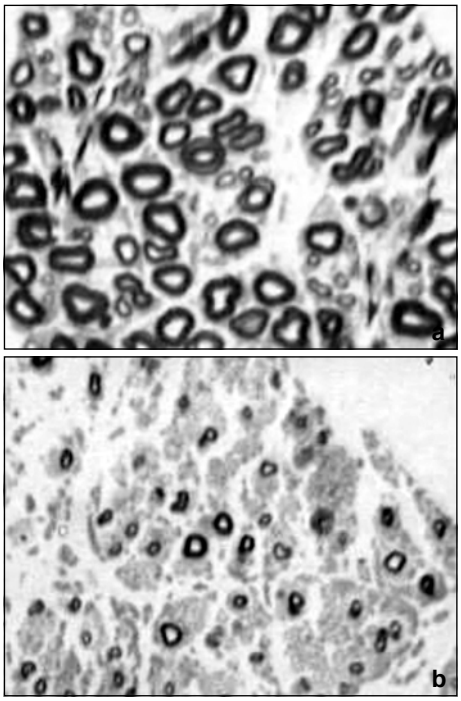


Figura 7
a. Secţiune semifină printr-un fascicul nervos cu densitate normală a fibrelor mielinice (albastru de toluidină, ob. 100)
b. Secţiune semifină printr-un fascicul nervos cu reducerea densităţii fibrelor mielinice (albastru de toluidină, ob. 100)

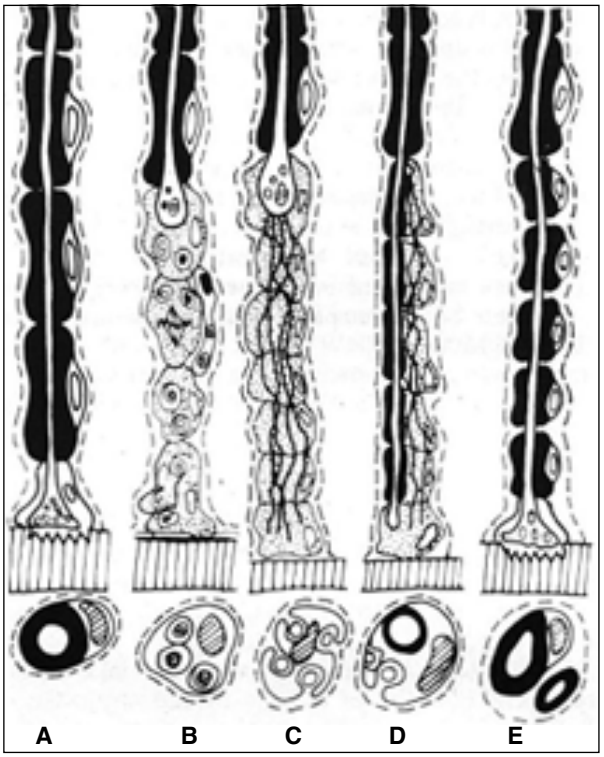


Figura 8
Schema degenerării şi regenerării axonale (după Weller şi Cervos-Navarro, 1977)

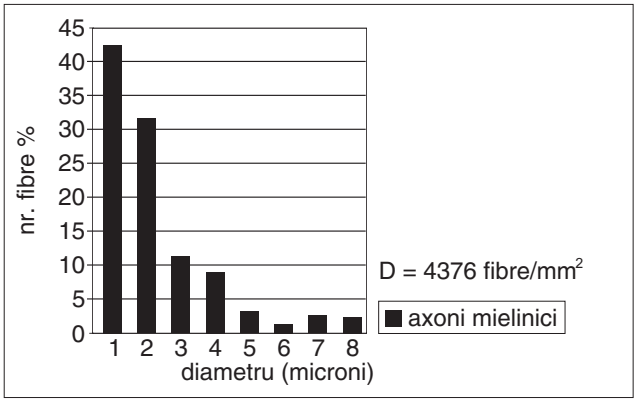


Figura 9
Histograma fibrelor mielinice într-o degenerare axonală

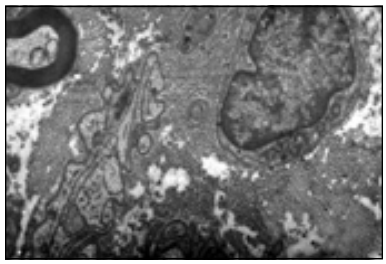


Figura 10
Cordon Bungner mielinic (ME)

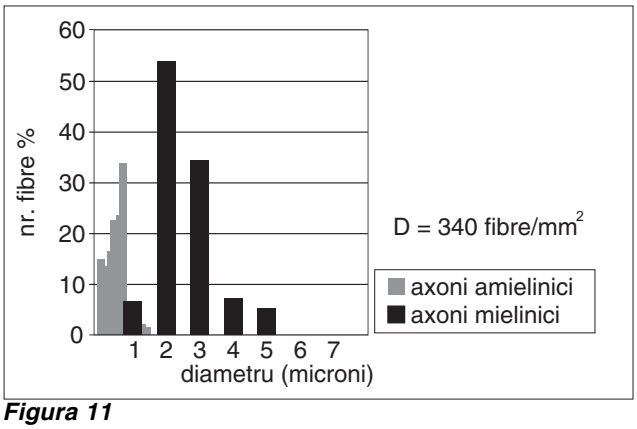


Figura 11
Histograma unui nerv cu activitate regenerativă vie

Figura 12
Fibre mielinice mici cuprinse iniţial în aceeaşi celulă Schwann (ME)

(fig. 13), iar pe preparatele de fibre mielinice disociate, fibre cu internoduri scurte pe toată lungimea lor (fig. 14).

Afectarea fibrelor amielinice în neuropatiile axonale este în general mai redusă. Ca semne ale afectării lor se acceptă astăzi prezenţa de stive de prelungiri schwannice lipsite de axoni şi de buzunare de colagen (fig. 15) – fascicole de fibre de colagen cuprinse într-o prelungire schwannică rămasă fără axoni.

Afectarea selectivă a axonilor amielinici sugerează un sindrom Riley-Day. Afectarea lor importantă alături de afectarea fibrelor mielinice apare în special în neuropatiile interstiţiale, inclusiv în neuropatia amiloidă.

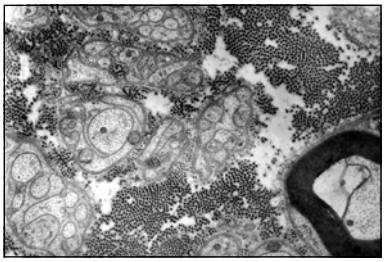


Figura 13
Muguri axonali (ME)

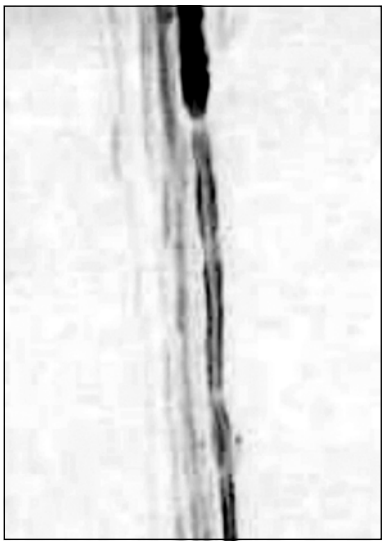


Figura 14
Fibre mielinice disociate cu internoduri scurte

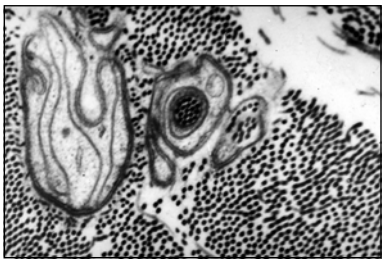


Figura 15
Stive de prelungiri schwannice şi buzunare de colagen (ME)

Tabloul morfologic al neuropatiei axonale newalleriene nu are nimic specific pentru o anumită boală, acelaşi tablou putându-se datora unei neuropatii genetice, neuropatiei diabetice cronice, alcoolismului sau altor toxice, neuropatiilor imunologice blânde, uremiei, deficienţelor vitaminice, porfiriei, vasculitelor etc. De aici importanţa coroborării datelor morfologice cu cele clinice şi paraclinice pentru încadrarea corectă a neuropatiei axonale respective.

2. Demielinizarea segmentală primară a fibrelor nervului periferic are 2 tipuri: simplă sau primară şi alergică.
   a. Demielinizarea segmentală simplă poate reprezenta şi ea leziunea primară din nerv sau poate fi secundară unei degenerări axonale. În general o proporţie mică de până la 8-10% fibre cu leziuni de demielinizare segmentală într-un preparat de fibre mielinice disociate indică un proces secundar de demielinizare segmentală. Desigur această cifră trebuie interpretată în funcţie de restul semnelor morfologice. Astfel, de exemplu, dacă semnele de degenerare axonală sunt reduse, demielinizarea segmentală poate fi interpretată ca leziune primară chiar dacă proporţia de fibre demielinizate nu este prea mare.

De cele mai multe ori demielinizarea segmentală apare în neuropatiile genetice demielinizante, diabet, leucodistrofiile metacromatică şi Krabbe, boala Refsum, unele neuropatii toxice, traumatisme sau compresii blânde, ischemii uşoare. În combinaţie cu degenerarea axonală apare mai ales în boala malignă şi la vârstnici.

Demielinizarea segmentală se recunoaşte în special pe preparatele de fibre mielinice disociate (fig. 16a), dar şi pe cupele semifine unde axoni de talia obişnuită a fibrelor mielinice apar fără teacă mielinică (fig. 16b).

Deseori demielinizarea segmentală se însoţeşte de remielinizare segmentală care pe secţiuni semifine se prezintă sub forma unor axoni cu teacă mielinică disproporţionat de subţire (fig.17), mai rar prea groasă, iar pe preparate de fibre mielinice disociate ca o succesiune de internoduri scurte interpusă între internoduri de lungime normală. Trebuie deosebite fibrele remielinizate cu teacă prea subţire de cele regenerate cu teacă tot subţire, ultimele fiind în general de talie mică sau medie. Figura 18 reprezintă schema de- şi remielinizării segmentale.

Dacă lărgirea nodurilor Ranvier, prima etapă a demielinizării segmentale, nu depăşeşte 15µm, remielinizarea se produce prin reexpansionarea mielinei adiacente. O lărgire a nodului între 15µm şi 40µm este remielinizată de o singură celulă Schwann rezultând un internod scurt. Un întreg internod demielinizat este însă remielinizat de mai multe celule Schwann migrate din vecinătate sau multiplicate, rezultând mai multe internoduri scurte deoarece o celulă Schwann mielinizează sau remielinizează un segment de axon lung de 300-400µm ca în perioada embrionară (Weller şi Cervos-Navarro,1977).

În situaţii de de- şi remielinizări repetate apare remielinizarea hipertrofică al cărei marker este „bulbul de ceapă" (fig. 19) – straturi concentrice de prelungiri schwannice separate între ele de fibre de colagen, straturi având în centru un axon mielinic sau demielinizat sau mielinizat subţire sau o simplă porţiune de celulă Schwann. Bulbii de ceapă apar atunci când semnalului dat de porţiunea de axon demielinizată îi răspund un număr de celule Schwann mai mare decât este necesar. Un tip particular de bulb de ceapă îl constituie cel format numai din straturi de falduri de membrană bazală schwannică în locul prelungirilor schwannice (fig. 20). Asemenea bulbi se întâlnesc mai ales în unele neuropatii ale copilului (Lyon, 1969; Gabreels-Festen şi Festen,1993). Bulbi de ceapă în număr redus pot apărea în orice proces de remielinizare, inclusiv în neuropatiile cu demielinizare segmentală puţin importantă. În neuropatiile genetice demielinizante cu remielinizare hipertrofică bulbii de ceapă pot fi extrem de numeroşi acoperind întreg câmpul microscopic.

b. Demielinizarea segmentală alergică (schema – fig. 21) este prezentă la om în neuropatiile de tip Guillain-Barre, CIDP, în care, pe lângă demielinizare segmentală, în biopsia de nerv se surprind grade diferite de infiltrare cu limfocite şi macrofage. Studii ultrastructurale (Wisniewski şi col, 1969) au arătat că în astfel de cazuri, în prezenţa limfocitelor, macrofagele pătrund prin

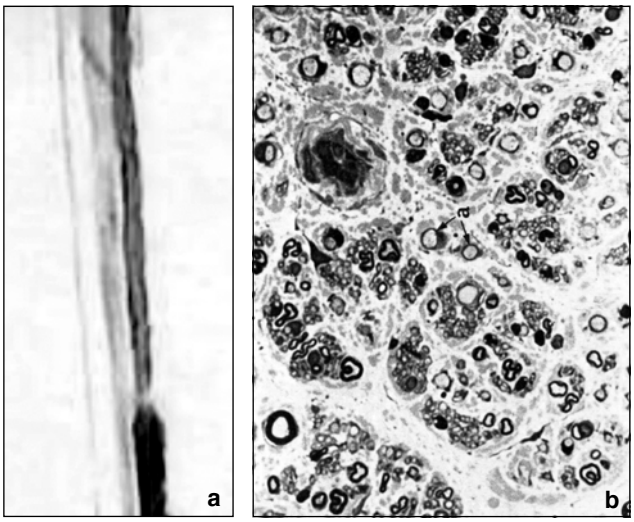


Figura 16
a. Fibre mielinice disociate cu demielinizare segmentală
b. Fibră demielinizată în secţiune semifină (după Weller şi Cervos-Navarro,1977)

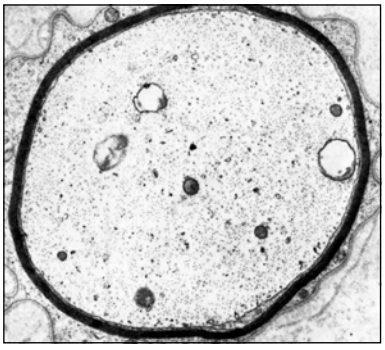


Figura 17
Fibră mielinică remielinizată

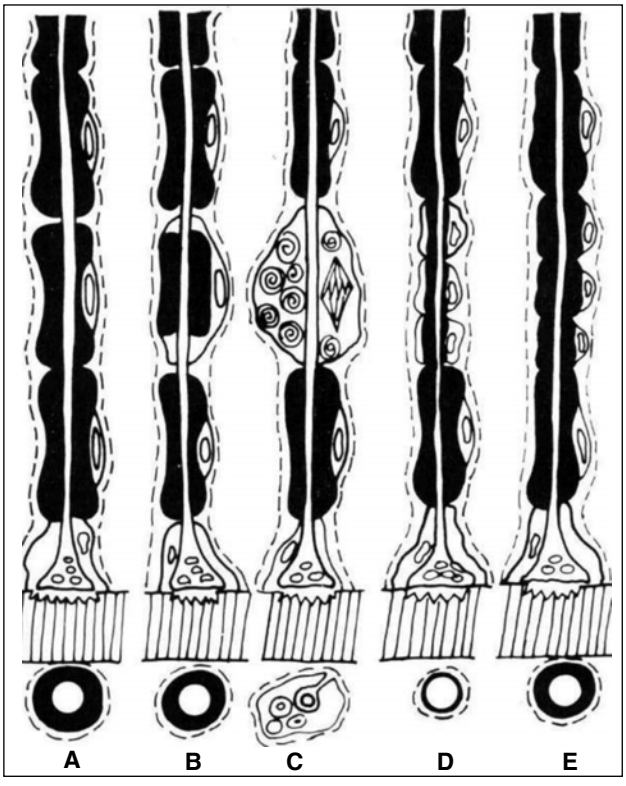


Figura 18
Schema de- şi remielinizării segmentale (după Weller şi Cervos-Navarro, 1977)

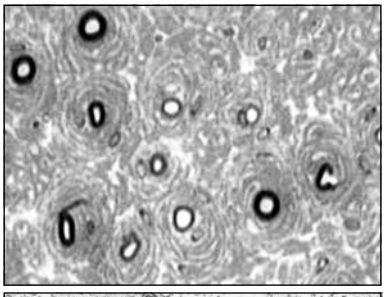


Figura 19
Bulbi de ceapă într-o neuropatie demielinizantă (albastru de toluidină, ob.100)

Figura 20
Bulb de ceapă format din straturi de falduri de membrană bazală schwannică (ME) (după Gabreels-Festen şi Festen, 1993)

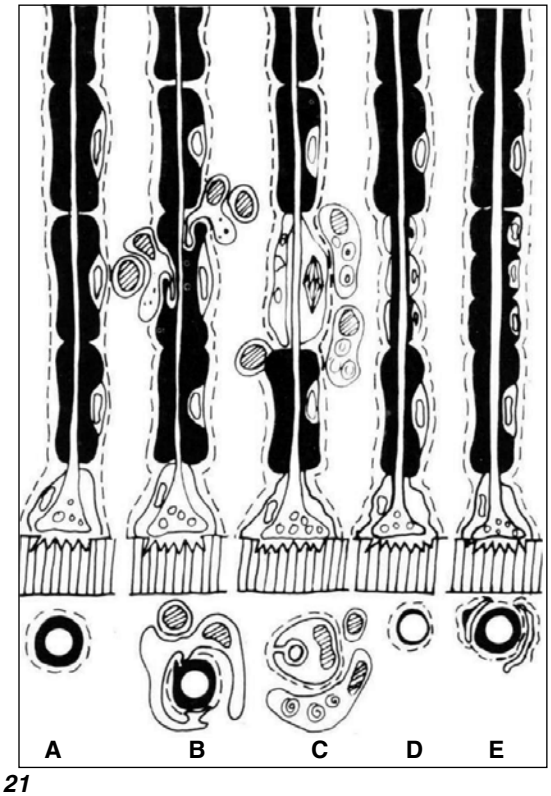


Figura 21
Schema demielinizării segmentale alergice (după Weller şi Cervos-Navarro)

Figura 22
Tomacula pe o fibră mielinică disociată

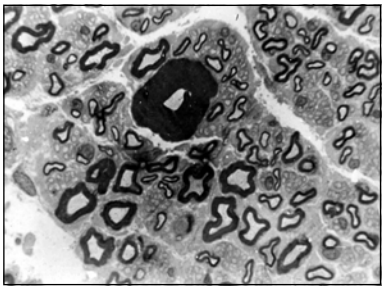


Figura 23
Tomacula într-o secţiune semifină a unui fascicul nervos (albastru de toluidină, ob. 100).

membrana bazală a celulei Schwann la nivelul unui nod Ranvier, se insinuează între citoplasma schwannică şi teaca mielinică, îndepărtându-le una de alta, şi determinând disoluţia tecii. Celulele Schwann participă în grade variabile la procesul de fagocitare a resturilor mielinice (Ballin şi Thomas, 1969).

Uneori asocierea degenerării axonale şi demielinizării segmentale suscită dificultăţi majore în stabilirea leziunii primare. Astfel, în gamopatia monoclonală benignă (MGUS) de tip IgM se asociază leziuni de degenerare axonală (scăderea densităţii fibrelor mielinice şi o proporţie crescută de fibre cu ovoizi şi bule) cu leziuni de demielinizare segmentală, cu umflări circumscrise ale unor teci mielinice şi cu lărgiri ale spaţiilor dintre lamelele mielinice. Depunerea de IgM în mielină sugerează primordialitatea leziunilor demielinizante. Totuşi scăderea mică a vitezelor de conducere nervoasă şi importanţă leziunilor de degenerare axonală sugerează faptul că degenerarea axonală ar fi leziunea primară (Kyle şi Dyck, 1993).

Tomaculele (fig. 22 şi 23) sunt îngroşări circumscrise ale tecii de mielină datorate unor lamele mielinice supranumerare sau a unor falduri externe sau adaxonale de grupuri de lamele mielinice. Prezenţa tomaculelor într-o biopsie de sural, totdeauna pe fondul unei neuropatii demielinizante, caracterizează morfologic neuropatia ereditară cu sensibilitate la presiune.

Descoperirea de granuloame într-o biopsie de nerv orientează diagnosticul fie spre o sarcoidoză, fie spre lepră.

Îngroşarea marcată a perinervului sugerează variate traume în antecedente.

Infiltrate inflamatorii în nerv se pot întâlni fie în neuropatii inflamator-alergice, fie în limfoame.

Surprinderea diverselor leziuni vasculitice în nerv este de asemenea utilă pentru diagnostic. Ele pot determina mici zone de infarct, de obicei în centrul fasciculului nervos.

În încheiere, revin asupra importanţei coroborării datelor clinice, inclusiv anamnestice, electrofiziologice, morfologice, eventual biochimice pentru stabilirea unui diagnostic corect, pentru ca biopsia de nerv să devină realmente utilă.

BIBLIOGRAFIE

1. **Ballin RHM,Thomas PK** – Electron microscope observations on demyelination and remyelination in experimental allergic neuritis. Part I. Demyelination. *J Neurol Sci* (1969):1-9 .
2. **Cangiano A, Lutzemberger L, Rizzuto N, Simonati A, Rossi A, Toschi G** – Neurotoxic effects of 2,5-hexanedione in rats: early morphological and functional changes in nerve fibres and neuromuscular junctions. *Neurotoxicology* (1980), 2:25-32.
3. **Dyck PJ, Thomas PK, Griffin JW, Low Pa, Poduslo JF** – *Peripheral Neuropathy*. WB Saunders Comp, Philadelphia-London-Toronto-Montreal-Sydney-Tokyo (1993).
4. **Gabreels-Festen A, Festen F** – Hereditary demyelinating motor and sensory neuropathy. *Brain Pathol*, (1993), 3:135-146.
5. **Krinke G, Schaumburg HH, Spencer PS, Suter J, Thomann P, Hess R** – Piridoxine megavitaminosis produces degeneration of peripheral sensory neurons (sensory neuropathy) in the dog. *Neurotoxicology* (1981), 2:13-24.
6. **Kyle RA, Dyck PJ** – Neuropathy associated with the monoclonal gammopathies. In: *Peripheral Neuropathy*. Dyck PJ, Thomas PK (eds), WB Saunders Comp, Philadelphia-London-Toronto-Montreal-Sydney-Tokyo (1993):1275-1285.
7. **Lyon G** – Ultrastructural study of a nerve biopsy from a case of early infantile chronic neuropathy. *Acta Neuropathol* (Berl)(1969), 13:131-142.
8. **Weller R, Cervos-Navarro J** – *Pathology of Peripheral Nerves*. Butterworths. London-Boston-Sydney-Wellington-Durban-Toronta (1977).
9. **Wisniewski H, Prineas J, Raine CS** – An ultrastructural study of experimental demyelination and remyelination. I Acute experimental allergic encephalomuelitis in the peripheral nervous system. *Lab Invest* (1969), 21:105-108.
10. **Wisniewski HM,Sturman JA,Shek JW** – Chronic model of neurofibrillary changes induced in mature rabbits by metalic aluminium. *Neurobiol Aging* (1982), 3:11-23.